

マウスc-myc遺伝子のメチル化に及ぼす老化，腫瘍化，エネルギー制限の影響

著者	宮村 佳典
号	1228
発行年	1995
URL	http://hdl.handle.net/10097/21067

氏 名（本籍）	宮 ^{みや} 村 ^{むら} 佳 ^{よし} 典 ^{のり}
学 位 の 種 類	博 士 （ 医 学 ）
学 位 記 番 号	医 博 第 1 2 2 8 号
学位授与年月日	平 成 7 年 3 月 24 日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項該当
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）生理学系専攻
学 位 論 文 題 目	マウス c-myc 遺伝子のメチル化に及ぼす老化，腫瘍化，エネルギー制限の影響

（主 査）

論文審査委員	教授 小 野 哲 也	教授 安 井 明
	教授 帯 刀 益 夫	

論文内容要旨

【目 的】

老化に伴う DNA のメチル化が老化の原因のひとつであるかどうかを探ることが本研究の目的であり、具体的にはマウス肝における c-myc 遺伝子の DNA メチル化が、(1)C3H マウスの老化過程でどう変わるか、(2)1 年齢以上の C3H に多発する肝腫瘍ではどうか、(3)放射線及び化学物質によって誘発された肝腫瘍ではどうか、(4)生後 3 週齢からエネルギー制限したマウスではどうかについて調べた。またこの間に加齢に伴う DNA メチル化がマウス系統によって異なることを見いだしたので、その原因を探るべく DNA メチル化に働く、DNA メチルトランスフェラーゼ遺伝子の多型性について調べた。

【方 法】

所定の age に達したマウスを殺し組織を採集した。採集した組織を DNA 抽出まで -70℃ に保持した。SDS/phenol 法により組織から DNA を抽出した。この DNA を、DNA メチル化に感受性の酵素で切断し電気泳動しフィルターにトランスファーした。さらにこのフィルターと ³²P ラベルした c-myc のプローブをハイブリダイゼーションすることにより、c-myc 遺伝子のメチル化を調べた。また X 線フィルム上のバンドをデンスitomーターで解析することによりメチル化の定量を行った。

【結 果】

(1) C3H マウスの老化過程でのメチル化の変化

C3H マウス正常肝では、c-myc の 5' 側のメチル化が加齢に伴いわずかに減少した。また、c-myc の 3' 側では加齢に伴いメチル化が増加した。

(2) C3H マウスの自然発生腫瘍におけるメチル化の変化

腫瘍化により、c-myc の 3' 側のメチル化は変化し、特に初期の腫瘍でメチル化の増加がみられた。進行した腫瘍では c-myc の 3' と 5' 側両方に脱メチル化がみられた。

(3) 放射線、化学物質により誘発された肝腫瘍におけるメチル化の変化

放射線や化学物質で誘発された腫瘍においても、c-myc の 3' 側のメチル化の変化が高頻度に見られた。ただし、処理方法による特異性は見出せなかった。

(4) 生後 3 週齢よりエネルギー制限をしたマウスによるメチル化の変化

エネルギー制限をしたマウスでは、コントロールのマウスに比べ、加齢に伴うメチル化の変化

が抑えられる事を見出した。

(5) マウス系統間での加齢に伴うメチル化の変化の違い

本研究に用いた C3H 系マウスと SHN/C3HF1 系マウスの間で、加齢に伴うメチル化の変化に違いが見られた。

(6) マウス系統間における DNA メチルトランスフェラーゼ遺伝子の多型性

25 系統のマウスの DNA メチルトランスフェラーゼ遺伝子につき RFLP を指標にして調べた結果 4 つのアリルが見つかった。また C3H と SHN が異なるアリルに分かれる事も明らかになった。

以上の事から、分かったことのひとつは腫瘍の初期のメチル化の変化と、加齢に伴うそれは質的に類似していることである。このことは腫瘍での変化は加齢に伴う変化を増幅したものと推測され、腫瘍化と老化が、分子レベルで密接に関連していることを示唆している。

また、マウスとラットではエネルギー制限により寿命が延長することが知られているが、本研究では加齢に伴うメチル化の変化がエネルギー制限により抑えられることが明らかになった。このことは DNA メチル化が老化と密接に関与することを示唆する 1 つの証拠である。

加齢に伴うメチル化の変化に差がある系統の間で、DNA メチルトランスフェラーゼ遺伝子にも違いがみられたのは興味深い。このことは SHN/C3HF1 系で、c-myc 遺伝子のメチル化の増加が速いことの原因として DNA メチルトランスフェラーゼ遺伝子活性の違いがある可能性を示唆する。ただし、見つかった RFLP は、exon の内か外かが不明であり（遺伝子の全構造が明らかになっていない。）、今後明らかにする必要がある。

【考 察】

老化に伴う DNA の変化としては DNA 損傷の蓄積、突然変異の増加などが報告されてきたが、今回の研究により DNA メチル化の変化も重要な要因のひとつである可能性が示された。また老化と腫瘍化でのメチル化の変化を同じ系で同時に比較したのは本研究が初めてであり、腫瘍化と老化の関連性を直接分子レベルで示唆することができた点は意義がある。

審 査 結 果 の 要 旨

生物の老化は生命科学の研究対象として興味あるばかりでなく、現代の人類が直面している高齢化社会の諸問題について医学的側面からの解決方法を見出して行く上でも重要な研究課題となっている。老化現象の原因についてはすでに多くの仮説があげられているものの、それ等を支持する証拠は非常に乏しいのが現状である。そのような中での有力なアプローチのひとつは生体の遺伝情報を担っている DNA 上の変化を追跡することにより、老化の原因を探って行くというものである。老化に伴う DNA あるいは染色体上の変化は過去にいくつか報告されてはいるが、それらのうち老化の主な特性、すなわち生物種による老化速度の違いや食事（エネルギー）制限による寿命の延長、放射線照射による寿命の短縮、老化個体に於ける病気の多発などをすべて合理的に説明できるようなものは何もないのが現状である。

本研究は今までの研究から老化に伴って変化することが分かっているいくつかの DNA 変化のうち DNA メチル化の変化に焦点をしぼり、それが個体の老化にどれ程重要であるかについて異なる観点から2つのことを明らかにしている。すなわち、①老化個体に多発する腫瘍での DNA メチル化の変化は質的に老化に伴う変化と類似しているが量的には老化を加速したような変化であること、②マウスの寿命を延長することが分かっている摂取エネルギーの制限が老化に伴う DNA の変化を抑制していること、である。研究はさらに老化に伴う DNA メチル化の変化がマウスの系統間で異なることを見出し、しかもその原因の可能性として DNA メチル化に働く DNA メチルトランスフェラーゼ遺伝子の polymorphism があげられることを示している。これ等の新しい知見は老化の原因を考える上で DNA メチル化の変化が重要な要因のひとつである可能性を示したものであり、学位論文に値する。